

---

# ANNALES

DE

# L'INSTITUT PASTEUR

---

## L'IMMUNITÉ ET LA SÉROTHÉRAPIE CONTRE LA FIÈVRE JAUNE

PAR LE D<sup>r</sup> J. SANARELLI

Directeur de l'Institut d'Hygiène expérimentale à l'Université de Montévidéo.

---

### TROISIÈME MÉMOIRE

---

#### I

#### LE SÉRUM DES CADAVRES ET DES CONVALESCENTS DE FIÈVRE JAUNE

L'intérêt de l'étude biologique du sérum de sang dans les maladies infectieuses réside non seulement dans les relations qu'il peut présenter avec la doctrine de l'immunité, mais aussi dans l'aide qu'il est à même de prêter, pour le diagnostic, dans la pratique médicale.

C'est à cause de cela que j'ai aussi étudié cette question, mettant toujours à profit l'abondant matériel recueilli au lazaret de l'île de Florès et à l'hôpital Saint-Sébastien de Rio Janeiro.

*Sérum du cadavre.* — La plupart de mes autopsies ayant été pratiquées immédiatement ou peu de temps après la mort, j'ai souvent trouvé que le sang du cœur n'était pas encore coagulé, et pouvait être aspiré en quantité abondante dans les pipettes.

Une fois la coagulation survenue dans celles-ci, il était facile d'en extraire le sérum, en introduisant la pointe d'une pipette stérilisée à travers le bouchon de ouate.

Le sérum ainsi obtenu ne présente pas toujours le même aspect; parfois transparent et clair comme le sérum normal, il est d'autres fois légèrement rougi par l'hémoglobine dissoute ou

légèrement jaunâtre à cause de la présence des pigments. — J'ai souvent observé que le sérum jaunâtre prenait une teinte vert olivâtre, après une exposition d'un jour à la lumière; ce fait parle indiscutablement en faveur de la présence de la biliverdine.

Dans quelques cas enfin, la coagulation survient en bloc sans séparation du sérum, ou bien elle ne se fait pas du tout, le sang restant parfaitement et constamment fluide dans l'intérieur des pipettes.

Le sérum du sang des cadavres produit nettement, dans les cultures *in vitro* du bacille ictéroïde, le phénomène de l'agglutination, mais l'intensité de cette réaction est assez variable.

Inoculé aux animaux, il ne présente aucun pouvoir préventif envers le bacille spécifique.

Le sérum (transsudé), retiré pur de la cavité du péricarde, a toujours un pouvoir agglutinant plus faible que celui du sérum séparé du sang par coagulation; parfois même ce pouvoir manque complètement.

*Sérum des convalescents.* — J'ai pu obtenir une bonne quantité de sérum, en pratiquant une abondante saignée à un convalescent de l'hôpital Saint-Sébastien de Rio Janeiro.

Cet homme, nommé Manuel Sol, Espagnol, de 40 ans, entré à l'hôpital le 7 juin, bien qu'il fût malade déjà depuis 4 jours, était guéri le 9 du même mois, après sept jours de maladie caractérisée surtout par d'abondants *vomito negro*.

Le 20 du même mois, il présentait encore une teinte ictérique générale assez marquée. Une saignée de près de 150 c. c. me permit d'obtenir, après 24 heures, une bonne quantité de sérum, couleur vert émeraude, limpide et transparent. — Ce sérum provoqua très lentement l'agglutination, mais ne montra, chez les animaux, qu'une faible action préventive envers le bacille ictéroïde.

L'injection simultanée du sérum et du virus n'arrivait pas à sauver les cobayes de la mort, mais on évitait celle-ci dans la plupart des cas si l'injection du sérum était pratiquée 24 heures avant celle du virus, et à la dose minima de 2 c. c.

Dans ce sérum, le bacille ictéroïde a de la peine à se multiplier, mais reste vivant longtemps.

Je dirai une fois pour toutes que j'ai expérimenté, sur le bacille



ictéroïde, du sérum humain obtenu de plusieurs individus normaux ou convalescents de maladies autres que la fièvre jaune, et que ces sérums n'ont jamais montré chez les animaux, même à très forte dose, la plus légère action préventive ou curative.

Au point de vue du phénomène de l'agglutination, on doit cependant signaler les observations suivantes : le *sérum anti-diphtérique* préparé dans mon Institut produit très rapidement l'agglutination du B. ictéroïde ; le *sérum antityphique* produit le même phénomène, mais partiellement ; le *sérum anticolique*, de même que le sérum normal de l'homme et de plusieurs autres animaux, ne le produisent pas.

## II

### L'IMMUNISATION DES ANIMAUX CONTRE LA FIÈVRE JAUNE EXPÉRIMENTALE

La fièvre jaune humaine, une fois la guérison survenue, laisse le patient, au moins pour quelque temps, bien vacciné contre une attaque ultérieure ; il était donc naturel de supposer qu'on pourrait aussi obtenir artificiellement l'état vaccinal chez les animaux.

Après plusieurs essais, pratiqués suivant les principales méthodes d'immunisation appliquées jusqu'aujourd'hui, j'ai dû renoncer aux lapins, à cause de leur excessive sensibilité. — Ces animaux, en effet, peuvent tolérer pendant longtemps l'injection de doses relativement élevées de culture filtrée ou stérilisée à l'éther ou au formol (la température de 100° C. altère les propriétés de la toxine amarile), mais succombent infailliblement à l'injection consécutive du virus vivant, même à dose très faible.

Pour des raisons à peu près analogues, j'ai dû aussi abandonner la chèvre et le mouton ; en effet, ces animaux sont doués d'une réceptivité extraordinaire à l'action du virus, et présentent en outre une sensibilité si exagérée du foie et du rein, que souvent, pendant le traitement, la néphrite survient, accompagnée d'insuffisance rénale et de dégénérescence graisseuse du foie.

Mes expériences d'immunisation se sont donc bornées aux cobayes, aux chiens et aux chevaux.

A. — *Vaccination des cobayes.* — A l'inverse de ce qui arrive

pour plusieurs autres maladies, dans lesquelles le cobaye représente l'animal de choix pour obtenir une immunisation rapide et solide, sa vaccination contre la fièvre jaune exige un travail difficile et minutieux.

La méthode la meilleure, et qui a surtout l'avantage d'éviter une grande perte d'animaux, consiste à employer d'abord, et pendant quelques semaines, des petites doses de culture filtrée, ou bien les exsudats pleural ou péritonéal d'une chèvre morte par intoxication amarile, et conservés stériles moyennant quelques gouttes d'aldéhyde formique.

Après un mois environ de ce traitement, en prenant soigneusement tous les jours le poids de l'animal, on parvient à obtenir une certaine accoutumance générale à la toxine amarile, et on peut par suite, quelques jours après la dernière injection, pratiquer l'inoculation d'une faible quantité de virus (0,4 c. c.); cette dose, ainsi qu'il résulte de mes recherches précédentes, doit être considérée comme presque sûrement mortelle.

Cette première inoculation de virus pratiquée, il faut attendre au moins 20 ou 30 jours, car, dans toute cette période de temps, l'animal peut mourir d'un jour à l'autre.

Si l'on a cependant le soin de suivre attentivement les oscillations présentées par le poids du corps de l'animal, qui habituellement diminue sensiblement dans les premiers jours, on arrive à être presque sûr de la disparition du danger, lorsqu'on constate que le poids du corps est revenu à la normale.

Une fois terminés les effets de la première inoculation de virus, on peut en pratiquer immédiatement une seconde en élevant un peu la dose (0,5 c. c.)

En agissant ainsi et en surveillant soigneusement la diminution du poids du corps, on peut toujours apprécier l'opportunité d'une injection ultérieure, de même que sa dose. De nouvelles injections de virus doivent être absolument évitées, tant que l'animal n'a pas repris son poids primitif.

Malgré cela, les vaccinations, même les plus lentes et les mieux conduites, produisent chez les cobayes une mortalité assez élevée.

En réalité, c'est seulement après 6 ou 7 mois qu'on peut avoir un cobaye bien vacciné contre le bacille de la fièvre jaune.

J'ai actuellement plusieurs cobayes qui ont reçu à plusieurs



reprises l'injection sous-cutanée de 2 c. c. de culture virulente, dose qui tue infailliblement en 7 ou 8 jours.

On doit cependant observer que, malgré une vaccination aussi solide contre le virus, les cobayes restent encore assez sensibles à sa toxine et que, par conséquent, lorsqu'on injecte en une seule fois la forte dose de 2 c. c., on doit toujours attendre au moins un mois avant de la répéter.

A cette vaccination-ci, comme à toutes celles des animaux contre la fièvre jaune, on peut appliquer, mieux que dans toutes les autres maladies expérimentales connues jusqu'ici, l'avertissement suivant : *en allant lentement, on gagne du temps.*

Si l'on se rappelle qu'une bonne vaccination d'un cobaye contre le choléra, la fièvre typhoïde, etc., ne demande guère plus de 2 ou 3 mois, on voit de suite la difficulté d'une vaccination contre la fièvre jaune, qui exige, comme nous l'avons vu, au moins 6 ou 7 mois d'un travail assidu et délicat.

B. — *Vaccination des chiens.* — Le chien peut être immunisé, contre la dose mortelle minima de *Bac. ictéroïde*, bien plus rapidement que le cobaye.

En effet, il suffit de pratiquer pendant près de deux mois, à intervalles relativement courts, une série d'injections sous-cutanées d'abord, intra-veineuses ensuite, de cultures filtrées et stérilisées simplement avec de l'éther, pour pouvoir procéder à l'injection du virus.

Celui-ci est toujours représenté par une culture en bouillon datant de 24 heures; il doit être injecté d'abord dans le tissu sous-cutané.

Bien que ce procédé, comme je l'ai déjà signalé, provoque toujours des infiltrations qui peuvent donner lieu à de vastes collections purulentes, je considère ce traitement comme indispensable avant de passer aux injections intra-veineuses.

Ces injections intra-veineuses peuvent être pratiquées dans une quelconque des nombreuses veines superficielles du corps; il est cependant préférable d'éviter autant que possible les veines du cou, car elles doivent servir aux saignées ultérieures.

Habituellement, lorsqu'on commence à pratiquer les injections intra-veineuses, les chiens se montrent extraordinairement sensibles. Le vomissement surtout survient presque sans exception, et, après la première injection, les animaux restent abattus

et fébricitants pendant plusieurs jours. Peu à peu cependant, l'accoutumance à des doses toujours croissantes de culture virulente s'établit de mieux en mieux, et le chien arrive à tolérer, au bout de 7 à 8 mois, des quantités plusieurs fois mortelles du virus amaril.

Il faut cependant faire remarquer que, malgré leur tolérance indiscutable envers le virus, les chiens, même solidement vaccinés, ne s'habituent jamais totalement aux doses élevées de toxine; en effet, tout de suite après l'injection intra-veineuse, surtout lorsqu'elle est pratiquée avec une culture en bouillon, le vomissement survient toujours, et l'animal reste pendant quelques heures très abattu.

Il est donc plus utile, quoique moins commode, de remplacer les cultures en bouillon par des cultures sur gélose, étendues d'eau stérilisée.

C. — *Vaccination des chevaux.* — Si l'on veut utiliser les propriétés préventives et curatives du sérum des animaux vaccinés, pour la prophylaxie et le traitement de la fièvre jaune humaine, il est clair qu'il faut s'adresser aux animaux de grande taille.

Le bœuf et le cheval se présentent alors en première ligne.

Le bœuf a sur le cheval l'avantage de tolérer les injections sous-cutanées de cultures ictéroïdes sans jamais présenter ces énormes tuméfactions, accompagnées de longues réactions fébriles et suivies d'ulcérations, qui constituent la règle chez le cheval, et rendent impossible sa vaccination par voie sous-cutanée. Mais, en dehors de la plus grande difficulté technique, le bœuf présente l'inconvénient de ne pouvoir tolérer, sans de graves désordres, les injections intra-veineuses de toxine ou de virus stérilisé.

En général, ces injections intra-veineuses sont mal tolérées, même par le cheval, et exigent un ensemble de précautions que suggèrent seules une longue habitude et l'expérience.

Pour vacciner un cheval contre la fièvre jaune, on procède de la façon suivante :

Après avoir choisi un bon animal, jeune et de race métisse (les chevaux créoles doivent être rejetés, étant trop sensibles à l'action de la toxine), on le soumet d'abord aux injections sous-cutanées de petites doses (5 à 10 c. c.) de culture filtrée.

Ces injections sont habituellement suivies d'élévation de la



température, qui peut parfois durer plusieurs jours. Une fois terminée cette première période, qu'on pourrait presque considérer comme une période préparatoire, on doit abandonner les injections sous-cutanées, parce qu'en produisant une fièvre presque continue et des ulcérations qui guérissent difficilement, elles amènent un amaigrissement remarquable de l'animal.

Les injections intra-veineuses (dans la jugulaire externe) doivent être commencées par de petites doses de culture filtrée; elles sont bien tolérées, en général, et ne provoquent qu'une légère élévation de température, dont la durée est de quelques heures.

Si l'on commence à augmenter la dose, ou si l'on remplace les cultures simplement filtrées par des cultures stérilisées à l'éther, dont l'activité est plus grande, l'animal est pris d'un malaise général assez grave pour mettre souvent sa vie en danger.

Habituellement, tout de suite après chaque injection, le cheval ressent les effets généraux du poison amaril; il se tient à peine debout, est pris d'un tremblement général et est enfin obligé de se coucher par terre en proie à des accès de dyspnée, souvent très intenses, et qui peuvent parfois provoquer la mort.

Cette première période de profond malaise finie, survient la fièvre; elle ne manque jamais, dure près de 12 heures, et est accompagnée d'inappétence, de tristesse et de faiblesse générale.

C'est à cause de cela que les injections ne peuvent être répétées qu'à de longs intervalles et en se guidant chaque fois sur l'état de l'animal.

Je dois encore faire une autre observation, très importante au point de vue de la technique de la vaccination du cheval.

On doit éviter soigneusement de pratiquer l'injection hors de la veine. On provoque alors des œdèmes tellement étendus et profonds sur les côtés du cou, que non seulement ils rendent impossible, pour quelques semaines, toute injection intra-veineuse ultérieure et amènent un état fébrile très dangereux, mais finissent par se propager aux parties déclives du thorax, en envahissant parfois les membres antérieurs, et mettant ainsi le cheval dans l'impossibilité de remuer.

Après deux mois de traitement au moyen des cultures filtrées, on peut employer les cultures simplement stérilisées à

l'éther ; c'est seulement 5 ou 6 mois après le début du traitement qu'on peut se hasarder à pratiquer la première injection d'une petite quantité de culture vivante.

Cette première injection détermine une réaction générale, caractérisée surtout par l'inappétence, l'amaigrissement et la fièvre qui durent entre 8 et 10 jours.

Cette période de temps finie, on peut répéter l'injection de virus en employant peu à peu de 5 à 10 c. c. de cultures en bouillon, datant de 24 heures.

Comme on peut le voir, dans la vaccination des chevaux contre la fièvre jaune, nous sommes loin de la technique facile et des résultats rapides qu'on obtient dans la vaccination antidiphthérique.

Pendant la vaccination des chevaux contre la fièvre jaune, bien d'autres accidents peuvent se produire qui mettent parfois l'existence en sérieux danger. Le bacille ictéroïde doit, en réalité, être compté parmi les plus difficiles et surtout les plus lents à produire dans l'organisme l'apparition des principes immunisants.

En effet, sur les cobayes, c'est seulement après un traitement de plusieurs mois que ces principes commencent à se montrer dans les expériences sérothérapiques, ainsi que nous le verrons plus loin.

### III

#### LA SÉROTHÉRAPIE DE LA FIÈVRE JAUNE EXPÉRIMENTALE

Il résulte, de ce que nous venons d'exposer sommairement, que l'immunisation des animaux contre l'infection produite par le microbe de la fièvre jaune constitue une tâche non seulement difficile, mais de longue durée.

Ceci explique qu'il m'ait fallu un traitement de plusieurs mois pour arriver à retirer des animaux immunisés un sérum doué de propriétés préventives et curatives.

En réalité, ces propriétés du sérum, même lorsque l'animal, ayant toléré des doses plusieurs fois mortelles de virus spécifique, doit être considéré comme bien vacciné, ne se montrent pas très actives dans les expériences sur les animaux.

Il faut pour cela qu'on ait prolongé la vaccination pendant



longtemps, et que l'animal ait reçu des quantités élevées de cultures virulentes.

Je crois donc superflu de rapporter les résultats obtenus avec le sérum retiré des animaux insuffisamment vaccinés.

Les animaux hypervaccinés et en état, par conséquent, de fournir un sérum actif ont été les suivants :

1<sup>o</sup> *Sérum de cobayes vaccinés.* — Près de 30 cobayes ont survécu à un traitement commencé au mois d'août 1896; chacun de ces cobayes avait reçu, à l'époque où ils commencèrent à fournir un bon sérum préventif et curatif (11 mars 1897), près de 20 c. c. de culture virulente dans l'espace de 7 mois<sup>1</sup>.

Le sérum de ces animaux, inoculé sous la peau des cobayes neufs 24 heures avant ou 24 heures après l'injection d'une dose de virus qui peut être considérée comme plusieurs fois mortelle (1 c. c.), suffit à empêcher la mort, qui arrive, comme on le sait, chez les animaux témoins, dans l'espace de 7 à 8 jours.

Ce résultat peut être obtenu, même en employant le sérum à la dose de 1 c. c.

Les animaux qui donnèrent les premiers succès sérothérapiques furent 26 cobayes, dont 20 furent traités avec le sérum, et les 6 restants gardés comme témoins; ces derniers succombèrent tous, comme d'habitude, entre le 6<sup>e</sup> et le 12<sup>e</sup> jour; sur les 20 cobayes traités, 3 succombèrent entre le 10<sup>e</sup> et le 16<sup>e</sup> jour, et les 17 restants se remirent tout à fait, après un amaigrissement progressif dont la durée fut de 14 à 15 jours.

2<sup>o</sup> *Sérum des chiens vaccinés.* — Je possède actuellement 3 chiens parfaitement vaccinés; le premier est celui sur lequel j'ai expérimenté pour la première fois, chez les chiens, l'action pathogénique du microbe spécifique de la fièvre jaune.

En effet, le 12 août 1896, ce chien, qui pesait 40 kilogr. 200, fut inoculé par voie intra-veineuse avec 10 c. c. d'une culture en bouillon datant de 24 heures. Consécutivement à cette injection, l'animal tomba gravement malade avec tous les symptômes les plus imposants de la fièvre jaune (vomissements, albuminurie, ictère, etc.); ces symptômes persistèrent pendant près d'un mois, durant lequel l'animal diminua de 3 kilogr. 400; malgré cela, il se rétablit complètement et fut réservé pour la

1. La dose de virus ordinairement mortelle pour les cobayes comme pour les lapins est de 0,1 c. c.

vaccination. Le 14 octobre suivant, c'est-à-dire 63 jours après la première injection de virus et 16 jours après le commencement de la convalescence, je lui pratique une saignée qui me permet d'obtenir une certaine quantité de sérum lactescent, doué envers les animaux d'un pouvoir préventif assez faible.

Je crus donc devoir renforcer la vaccination, en pratiquant des injections successives intra-veineuses de culture vivante en bouillon ou sur gélose.

Le 3 mai 1897, ce chien, bien qu'il eût reçu, dans l'espace de 8 mois, près de 300 c. c. de culture virulente, avait cependant atteint le poids de 15 kilogr. On lui pratique donc une saignée de près de 250 gr., qui fournit un sérum doué d'un pouvoir préventif et curatif presque aussi énergique que celui des cobayes hypervaccinés.

Si on ajoute quelques traces de ce sérum à une culture fraîche en bouillon de bacille ictéroïde, on provoque en quelques minutes, avec la rapidité d'une réaction chimique, le phénomène de l'agglutination.

Le sérum de ce chien, au commencement (mars 1897), sauvait en moyenne 8 cobayes sur 10, même lorsque ceux-ci étaient inoculés avec des doses plusieurs fois mortelles du virus. Aujourd'hui (juillet 1897), son activité est notablement augmentée, l'animal ayant reçu, par injection intra-veineuse ou péritonéale, autres 100 c. c. de culture en bouillon et 20 cultures sur gélose.

Le sérum ne paraît pas doué de propriétés antitoxiques, puisqu'il n'empêche pas l'amaigrissement marqué qu'on observe les premiers jours après l'injection des cultures microbiennes. On doit plutôt penser qu'il agit comme le sérum des animaux vaccinés contre le bacille typhique, le vibrion aviaire, etc., lequel, comme on le sait, n'agit pas en détruisant la toxine, mais en provoquant directement la destruction du microbe, grâce à l'intervention énergique des cellules de l'organisme.

Les deux autres chiens qui, aujourd'hui, fournissent aussi un bon sérum thérapeutique, furent soumis aux vaccinations le 1<sup>er</sup> septembre 1896; on commença par des injections sous-cutanées de cultures filtrées, puis de cultures stérilisées à l'aldéhyde formique, et enfin de cultures vivantes; sous-cutanées



d'abord, les injections furent faites plus tard par voie intra-veineuse.

Le premier de ces chiens pesait au commencement 12 kg. 200; le jour où je pratiquai chez lui la première saignée de 200 c. c. (22 février), il pesait 15 kilog. et avait reçu, en six mois environ de traitement : par voie sous-cutanée, 180 c. c. de cultures filtrées, 100 c. c. de cultures stérilisées à l'aldéhyde formique, et 55 c. c. de cultures vivantes; par voie intra-veineuse : 360 c. c. de cultures en bouillon et plusieurs cultures sur gélose.

Le sérum de ce chien, inoculé à la dose de 2 c. c., au moins 24 heures avant le virus, avait une action préventive chez les cobayes; injecté comme moyen curatif, à la dose de 2 ou 3 c. c. deux jours de suite, il réussissait à sauver près de la moitié des animaux.

Aujourd'hui (juillet), l'activité de ce sérum est remarquablement augmentée, l'animal ayant reçu périodiquement des inoculations de virus vivant, par voie péritonéale ou intra-veineuse.

Le second chien pesait au début 18 kg. 100; quand il a été saigné pour la première fois (1<sup>er</sup> mars 1897), son poids était de 19 kg. 200. Il avait reçu dans le même espace de temps que le précédent : par voie sous-cutanée, 460 c. c. de cultures filtrées, 120 c. c. de cultures stérilisées au formol et 50 c. c. de cultures vivantes; par voie intra-veineuse 290 c. c. de ces dernières.

Le sérum de ce second chien se montra alors assez faible : son action préventive chez les cobayes était seulement perceptible à la dose de 5 c. c. injectée deux jours de suite; son action curative était presque nulle.

Du 1<sup>er</sup> mars au 1<sup>er</sup> juillet, cet animal a reçu successivement, et en tout, l'injection péritonéale de 29 cultures sur gélose et de 70 c. c. de culture en bouillon; mais à partir du commencement de ce mois-ci, il a présenté une telle diminution de poids, que nous avons été forcés de remettre la seconde saignée à une époque ultérieure.

De ceci on peut déduire que la détermination chez les chiens d'une forte tolérance au virus amaril est lente et difficile; et, d'autre part, que des animaux appartenant à la même espèce réagissent cependant d'une façon fort différente.

L'efficacité préventive et curative de ce sérum fut toujours essayée chez les cobayes, parce que je ne possède pas encore un sérum assez actif pour pouvoir sauver les lapins, lesquels sont doués d'une sensibilité vraiment exceptionnelle envers le bacille ictéroïde.

3° *Sérum des chevaux vaccinés.* — Tout ce que nous avons dit plus haut, sur la vaccination des chevaux contre le virus amaril, n'est que le fruit de nos observations personnelles; je crois donc superflu d'insister sur des détails ultérieurs, relatifs à la méthode à suivre pour conduire à bonne fin une solide vaccination chez ces animaux.

Le premier cheval soumis au traitement fut un solide métis, auquel, le 24 juillet 1896, on inocula pour commencer 2 c. c. de culture filtrée, sous la peau.

Le 15 septembre suivant, il avait reçu en tout, par voie sous-cutanée, 760 c. c. de toxine filtrée; on commença alors de suite les injections intra-veineuses de cultures stérilisées à l'éther.

Le 21 novembre, il avait déjà reçu 2,040 c. c.; et le 24 du même mois, on lui pratique la première injection intra-veineuse de culture vivante.

Chaque injection de 10 à 20 c. c. était suivie d'un accès fébrile qui disparaissait habituellement après 24 heures.

Le 14 février 1897, après avoir reçu en tout, dans l'espace de près de 7 mois, 760 c. c. de cultures filtrées, 2 litres et 40 c. c. de cultures stérilisées et 240 c. c. de cultures vivantes, ce cheval mourut subitement, bien que son état général fût excellent et qu'il n'eût jamais été saigné.

Le second cheval, qui fournit actuellement un sérum doué d'un bon pouvoir préventif chez les cobayes, fut soumis au traitement le 1<sup>er</sup> octobre 1896.

Le 3 mai 1897, jour où je lui pratique une première saignée d'un litre, il avait reçu au total, et toujours par voie intra-veineuse : 29 c. c. de cultures filtrées, 2,640 c. c. de cultures stérilisées à l'éther, et 35 c. c. de cultures vivantes.

Le sérum obtenu par cette saignée fut essayé longuement dans le traitement préventif de l'infection amarile chez les cobayes; il se montra doué d'un pouvoir assez faible.

Pour sauver un cobaye après injection d'une dose mortelle



de virus amaril, il fallait injecter au moins, 24 heures auparavant, 5 c. c. de sérum; cette dose devait être considérée comme vraiment excessive.

A cette époque, le sérum de ce cheval n'était pas en état, comme celui des cobayes et des chiens, de guérir la maladie une fois celle-ci développée.

Il se montrait donc doué d'un pouvoir préventif presque identique à celui du sérum des convalescents, dont nous avons parlé plus haut.

Du 3 au 4 mai on continua à pratiquer, tous les 4 ou 5 jours, des injections de culture en bouillon : on arriva ainsi à inoculer en une seule fois 35 c. c. de bouillon-culture. Pendant ce temps l'accoutumance se faisait rapidement, les réactions fébriles consécutives à chaque injection étaient plus faibles et ne duraient guère plus de 12 heures.

Le 10 mai on lui pratique la première injection intra-veineuse d'une culture sur gélose ; le 17 du même mois 2 cultures, et le 22 et le 29 du même mois 3 cultures chaque fois. Ces dernières doses furent cependant reconnues excessives à cause de la réaction fébrile et du malaise général grave présenté par l'animal après chaque injection ; on admit donc que la dose maximum pour chaque injection devait être limitée à 2 cultures sur gélose et que le nombre d'injections ne devait pas dépasser cinq par mois.

Le 31 juin, ce cheval avait reçu en tout, dans l'espace de 9 mois, les quantités suivantes du virus :

Injection sous-cutanée de culture filtrée,	29 c. c.
— — — stérilisée.	350 —
— intra-veineuse de culture stérilisée.	2,640 —
— — — vivante.	345 —
— — — sur gélose.	19 —

Le 1<sup>er</sup> juillet on lui pratique une seconde saignée de 500 grammes, et le sérum fut essayé immédiatement sur les cobayes contre la dose mortelle de cultures virulentes.

Ce sérum, injecté 24 heures avant, à la dose de 0,5 c. c., donnait l'immunité ; à la dose de 2 c. c. il réussissait à sauver les cobayes déjà malades, même si on l'inoculait 48 heures après.

Ces doses sont encore loin de représenter la dernière expression du pouvoir préventif et curatif du sérum anti-amaril, surtout si l'on tient compte de celui des autres sérums préventifs et curatifs, préparés jusqu'à aujourd'hui.

Il résulte cependant de ceci qu'une bonne vaccination des animaux contre le bacille de la fièvre jaune est bien plus difficile et demande plus de temps que pour les autres espèces de virus connus.

Tels sont les résultats fournis jusqu'ici par les expériences de laboratoire au point de vue du traitement spécifique de la fièvre jaune.

L'action préventive et curative du sérum du cobaye, du chien et du cheval, vaccinés contre le bacille ictéroïde, doit être considérée comme absolument démontrée chez les animaux.

Des expériences analogues, pratiquées avec de fortes doses du sérum normal de l'homme et d'autres animaux, de même qu'avec du sérum antidiptérique, antityphique, anticholérique et antivenimeux (du Dr Calmette) n'ont donné aucun résultat au point de vue d'une action spécifique contre le microbe de la fièvre jaune.

Il est probable que ce même sérum, qui empêche de mourir un certain nombre d'animaux condamnés à succomber par fièvre jaune expérimentale, sera efficace dans la fièvre jaune spontanée de l'homme ; celle-ci offre, dans ces dernières années, surtout à Rio-Janeiro, un pourcentage de mortalité d'environ 43 0/0 <sup>1</sup>, et se trouve par conséquent dans des conditions bien meilleures pour profiter de l'action curative d'un sérum spécifique.

Ce fait ne pourra être vérifié que lorsque le cheval qui est actuellement le plus avancé en traitement <sup>2</sup> sera assez immunisé pour fournir un sérum encore plus actif, et en quantité suffisante pour permettre d'entreprendre des expériences de sérothérapie chez l'homme malade.

Montévidéo, 24 juillet 1897.

1. Ce pourcentage de mortalité dans la fièvre jaune est loin d'être constant ; il varie beaucoup suivant les épidémies et suivant les endroits atteints ; on a signalé, en effet, des oscillations allant de 13 0/0 à 96 0/0.

2. Il y a encore dans mon Institut un second cheval et un bœuf, en traitement depuis quelques mois, mais dont le sérum n'a pas encore été essayé chez les animaux.



# RECHERCHES SUR LA DESTRUCTION DES MICROBES

(VIBRION CHOLÉRIQUE ET BACILLE TYPHIQUE)

DANS LA CAVITÉ PÉRITONÉALE DES COBAYES IMMUNISÉS

PAR M. MARCEL GARNIER, interne des Hôpitaux de Paris.

---

On sait en quoi consiste le phénomène de Pfeiffer : si on injecte dans la cavité péritonéale d'un cobaye, immunisé contre la péritonite cholérique, une anse de culture virulente de choléra, on voit les vibrions devenir immobiles, se transformer en boules dans le liquide, puis disparaître; on observe le même phénomène, si dans le péritoine d'un cobaye neuf on injecte une anse de culture cholérique délayée dans du bouillon contenant une dose suffisante de sérum d'animal immunisé contre le choléra; après un temps plus ou moins long, et qui varie suivant la dose de sérum employé, on ne trouve plus de vibrions dans l'exsudat péritonéal. Si on répète cette expérience de Pfeiffer, et qu'on suive les changements survenus dans l'exsudat, à la fois sur des préparations séchées et colorées, on est frappé du petit nombre de leucocytes que l'on rencontre dans ces préparations : dans les prises faites de 2 à 3 minutes après l'injection, on voit les leucocytes se réunir en amas; plus tard ces amas deviennent de moins en moins nombreux, et dans l'exsudat prélevé 20 à 30 minutes après l'injection, les leucocytes sont si rares qu'il devient difficile d'en découvrir sur la préparation. M. Metchnikoff a attribué cette disparition des leucocytes à une véritable *phagolyse* : pour cet auteur, les phagocytes sont atteints par le liquide injecté, et se dissolvent partiellement dans l'exsudat, d'où l'hypoleucocytose remarquable que l'on observe alors. M. Piérallini<sup>1</sup>, qui a étudié spécialement ce phénomène, a

1. PIÉRALLINI, *Annales de l'Institut Pasteur*.

montré qu'il s'accompagnait de formation de fibrine dans l'exsudat ; il n'y a donc pas seulement dépôt des leucocytes sur la paroi péritonéale, comme le voulait M. Durham, mais une destruction cellulaire partielle.

Pour M. Metchnikoff, c'est la phagolyse qui explique le phénomène de Pfeiffer : si dans ce cas les vibrions sont transformés en boules en dehors des cellules, c'est que les leucocytes atteints laissent échapper leur contenu dans le liquide péritonéal, et cette transformation se fait dans le liquide par l'action de la substance cellulaire devenue libre ; et d'ailleurs le phénomène se termine par l'arrivée des leucocytes qui saisissent les boules ainsi produites et les détruisent dans leur intérieur. Pour démontrer complètement cette théorie, M. Metchnikoff chercha un moyen d'empêcher la phagolyse ; de cette façon, les cellules restant intactes, la destruction des vibrions se ferait par le processus habituel de la phagocytose. Dans ce but, il prépara des cobayes en leur injectant dans la cavité péritonéale 3 c. c. de bouillon peptonisé ordinaire, 24 heures avant l'expérience, et il reconnut qu'il n'avait plus alors l'hypoleucocytose après l'injection du mélange sérum-culture, et que les vibrions étaient saisis par les cellules et transformés en granules dans leur intérieur. Mais ce moyen, qui avait bien réussi à M. Metchnikoff, ne donna pas le même succès à d'autres expérimentateurs ; malgré l'injection préventive de bouillon, il y avait formation de granules extra-cellulaires ; d'où cette conclusion, que c'est le liquide péritonéal, et non les leucocytes, qui contient la substance immunisante.

Ce sont ces expériences que nous avons reprises ; nous avons recherché la raison des résultats dissemblables obtenus par les expérimentateurs, qui opéraient, semblait-il, dans des conditions analogues. Puis, ayant reconnu que l'injection préventive de bouillon est un moyen infidèle pour entraver la phagolyse, nous avons recherché si d'autres substances ne donnaient pas un succès plus constant. Nous nous sommes servis dans nos expériences de deux microbes différents, le vibrion cholérique et le bacille typhique ; ce dernier microbe n'avait pas encore été employé dans les recherches sur les cobayes préparés, et il était intéressant de contrôler avec ce bacille les résultats obtenus avec le vibrion cholérique.



\*  
\* \*

La culture du vibron cholérique, qui nous a servi, était maintenue virulente par de fréquents passages par le cobaye, et nous l'employions âgée de 20 à 24 heures; nous prenions soit une anse de culture qui était ensuite délayée dans 1 c. c. de bouillon, soit 1/10 de culture, c'est-à-dire 1 c. c. de la culture entière délayée dans 10 c. c. de bouillon; cette dose correspondant dans les deux cas à la dose mortelle. Le sérum que nous avons employé est du sérum de cheval immunisé contre le choléra et dont le titre était de 2 milligrammes<sup>1</sup>.

Nous avons d'abord expérimenté avec le bouillon, comme l'avait fait M. Metchnikoff, et voici les résultats que nous avons obtenus.

*Bouillon.* — Nous préparons des cobayes par une injection de 3 c. c. de bouillon peptonisé ordinaire, préparé depuis quinze jours environ, et conservé dans le laboratoire. Le lendemain nous prélevons un échantillon de l'exsudat avant toute nouvelle injection, et nous l'examinons en goutte suspendue; on voit alors sous le microscope toute la goutte occupée par des leucocytes, bien distincts les uns des autres, également réfringents, donnant l'aspect d'une sorte de mosaïque. Puis nous injectons le mélange sérum-culture, et nous faisons des prises successives de l'exsudat. Déjà 2 minutes après l'injection, l'aspect de la goutte suspendue a complètement changé; au lieu de voir les leucocytes également répartis dans toute la préparation, on trouve des amas leucocytaires nageant dans le liquide, et dans ces amas les leucocytes sont accolés et même confondus les uns avec les autres; souvent à côté de ces amas, on voit des masses glaireuses qui paraissent parfois s'échapper d'un leucocyte dont le pourtour est interrompu en un point. Dans les prises faites 5 et 10 minutes après l'injection, les amas deviennent de moins en moins nombreux; le liquide qui, dans la pipette, avait un aspect grumeleux devient de plus en plus clair et, après 20 à 30 minutes, il ne contient plus que très peu de leucocytes.

Dans ce cas, il y a donc eu véritablement phagolyse, et

1. Cette culture et ce sérum anticholérique nous ont été fournis par M. Salimbeni, que nous remercions ici de son obligeance.

l'atteinte des cellules est démontrée par leur agglutination, par la mise en liberté des masses glaireuses, et enfin par leur raréfaction progressive; aussi voit-on beaucoup de vibrions rester en dehors des cellules, et les granules se former dans le liquide; mais ces granules entourent de préférence les masses glaireuses flottant dans le liquide, qui en sont parfois comme chargées. Enfin, si on examine les préparations colorées, on reconnaît qu'il s'est produit un certain degré de phagocytose; en effet, après 4 et surtout après 10 minutes, on constate que beaucoup de leucocytes renferment des vibrions et des granules. Il y a donc eu dans ce cas à la fois formation de granules en dehors des leucocytes, c'est-à-dire phénomène de Pfeiffer, et phagocytose. Il y a eu phénomène de Pfeiffer parce qu'il y a eu phagolyse, et phagocytose parce qu'il y a eu phagolyse incomplète et que beaucoup de leucocytes ont pu englober des vibrions. C'est ce qu'avait obtenu Abel<sup>1</sup>, qui a vu la destruction typique des vibrions libres se faire, tandis que d'autres étaient pris par des cellules. Nous avons donc affaire ici à un cas mixte, mais il est très important, car c'est celui que l'on obtient le plus fréquemment; il était donc nécessaire de l'étudier de près; de plus il y a association des deux processus de destruction, et les partisans des deux théories (théorie humorale et théorie phagocytaire) peuvent y trouver des arguments.

Si maintenant au lieu de bouillon vieux, datant de deux semaines environ, et ayant subi l'action de l'air et de la lumière, on se sert de bouillon fraîchement préparé, les résultats vont être différents: prenons du bouillon de culture ordinaire préparé de la même façon que le précédent, avec la même peptone, mais préparé la veille ou le jour même, et injectons les 3 c. c. habituels; le lendemain, l'exsudat avant toute injection est très riche en leucocytes; injectons maintenant le mélange sérum-culture (1 c. c.) maintenu pendant quelque temps à l'étuve à 37°; si, 4 minutes après cette injection, on prélève l'exsudat, il apparaît épais, trouble, s'étalant mal sur la lamelle comme un crachat; au microscope on le voit formé de très nombreux leucocytes ayant conservé leur forme intacte, et renfermant déjà des boules pour la plupart; après 12 minutes, l'exsudat est

1. ABEL, *Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde*, 1896, tome XX, p. 761.



encore plus épais, les boules intra-cellulaires sont encore plus nombreuses, les vibrions libres sont très rares. Ainsi à ce moment la disparition des vibrions est déjà presque complètement effectuée, et cette disparition s'est faite par un processus de phagocytose : il n'y a pas eu phagolyse, et par conséquent pas de formation de granules extra-cellulaires.

Si on opère simultanément sur deux séries de cobayes, les uns préparés avec du bouillon frais, les autres avec du bouillon ancien, en injectant le même sérum à la même dose et la même quantité de vibrions, on se rend bien compte de la différence des résultats obtenus ; l'exsudat est complètement dissemblable dans les deux cas, et la disparition des vibrions se fait d'une façon différente. Mais il faut toujours préparer plusieurs cobayes à la fois, car même avec du bouillon fraîchement préparé et en prenant toutes les précautions voulues, on peut avoir un certain degré de phagolyse, et par suite formation de boules extra-cellulaires. En effet, le bouillon est un moyen infidèle pour préparer les cobayes ; il semble que même le bouillon frais, qui amène constamment une hyperleucocytose intense après 24 heures, ne donne pas toujours une activité cellulaire suffisante aux leucocytes pour résister à la phagolyse. Il nous fallait donc trouver une autre substance dont l'action soit plus certaine.

..

M. Piérallini, étudiant les conditions de la phagolyse, a montré qu'un liquide, quel qu'il soit, injecté dans le péritoine des cobayes, peut produire le phénomène ; c'est la solution physiologique de sel marin qui lui a paru la moins active ; elle a donné une diminution du nombre des cellules, mais jamais une disparition complète. Ce savant a vu de plus que l'injection de certains liquides amène après la période d'hypoleucocytose un afflux de leucocytes, qui atteint un maximum 20 à 24 heures après l'injection ; ce résultat est obtenu constamment avec l'eau salée à 0,65 0/0 et aussi avec le bouillon peptonisé ordinaire, pourvu qu'il soit fraîchement préparé. Si maintenant on répète les expériences de phagolyse chez les animaux ainsi préparés, on voit qu'il y a encore diminution de leucocytes après l'injection, diminution moins marquée que chez les animaux non

préparés, mais proportionnelle toutefois au nombre de cellules que contenait la cavité péritonéale. On voit par les résultats de M. Piérallini combien la phagolyse est un phénomène général, et combien il est difficile de l'entraver. Ajoutons que d'autres conditions influent sur sa production : c'est ainsi qu'elle sera plus complète si la quantité de liquide injecté est plus considérable, ou encore si le liquide est employé à la température du laboratoire et non chauffé à 37°.

Avant d'essayer l'eau salée, nous avons expérimenté avec quelques autres substances que nous allons passer rapidement en revue.

*Gélatine.* — Nous avons essayé la gélatine ordinaire de culture liquéfiée, à la dose de 2 à 3 c. c. ; dans un seul cas, nous eûmes un résultat favorable : le cobaye avait été préparé avec 2 c. c. de gélatine liquéfiée ; le lendemain, l'exsudat était très riche en leucocytes, resta épais après l'injection, et 3 minutes après les leucocytes contenaient des vibrions et des boules. Mais, dans les autres expériences, la leucocytose fut moins abondante, et les leucocytes se laissèrent dissoudre. De même aussi, dans une autre série d'expériences où nous injectons le sérum anticholérique en même temps que la gélatine, les résultats ne furent pas meilleurs.

*Nucléine.* — Nous avons employé cette substance en solution au 10<sup>e</sup>, et nous avons injecté 2 à 4 c. c. de cette solution. Dans ce cas nous avons obtenu une leucocytose abondante, mais toujours les leucocytes se dissolvaient en partie, et il y avait à la fois destruction intra et extra cellulaire des vibrions.

*Les cultures de staphylocoques stérilisées* nous ont donné encore de moins bons résultats ; en injectant 2 c. c. d'une culture de 24 heures en bouillon de staphylocoque doré, tué par la chaleur, nous avons eu le lendemain un exsudat peu riche en leucocytes, et où ceux-ci, avant même l'injection des vibrions, étaient réunis en amas ; dans ces conditions, comme il était facile de le prévoir, l'injection du mélange sérum-culture fut suivie de phagolyse.

*La tuberculine* a été injectée dans le péritoine à la dose de 1 c. c., soit seule, soit mélangée à 2 c. c. de bouillon. Dans les deux cas, nous avons obtenu une leucocytose assez abondante,



mais l'injection du mélange sérum-culture amena encore la phagolyse.

Le *sérum anticholérique* pur (sérum de cheval immunisé), injecté comme seule préparation dans le péritoine de cobayes, a amené le lendemain une leucocytose abondante ; l'injection de vibrions fut suivie d'un certain degré de phagolyse, mais moins marquée que dans les cas précédents ; il y avait alors une phagocytose assez marquée.

Devant ces résultats, nous avons eu recours à la *solution physiologique de sel marin*, le liquide qui altère le moins les leucocytes de la cavité péritonéale d'après M. Piérallini. Sans varier l'expérience, nous avons employé non seulement l'eau salée à 0,66 0/0, mais aussi une solution à 1 0/0, et nous avons injecté des doses variables, 3 c. c., 5 c. c., 10 c. c. Dans tous ces cas nos résultats ont été identiques : le lendemain de l'injection nous avons une hyperleucocytose manifeste, comme d'autres substances nous l'avaient déjà donnée. Mais ces leucocytes ne résistent pas complètement à l'injection de la culture ; sans doute la diminution du nombre de leucocytes n'était pas considérable, mais il y avait formation d'amas leucocytaires, et un certain degré de phagolyse. Nous avons eu toutefois dans ce cas de belles figures de phagocytose ; comme le nombre de leucocytes intacts restait suffisant, après 2, 3 et surtout 6 minutes, on voyait nettement des cellules renfermant des vibrions et des boules, et après 10 minutes, il n'y avait presque plus de vibrions libres. On peut donc dire que cette substance vient directement après le bouillon jeune pour préparer les cobayes.

\*  
\* \*

Nous avons ensuite répété ces expériences avec le bacille typhique.

Nous nous sommes servis d'une culture de bacille typhique de 24 heures sur gélose, virulente au 1/10 de culture, de jeunes cobayes de 200 à 300 grammes, et d'un sérum anti-typhique d'âne que M. le Dr Vidal a eu l'obligeance de nous fournir. En opérant comme l'indique Pfeiffer avec cette culture et ce sérum, on obtient d'une façon typique le phénomène qu'il a décrit.

La *tuberculine* nous a donné le même résultat qu'avec le vibron cholérique; un cobaye préparé avec 1 c. c. de tuberculine et 2 c. c. de bouillon reçut le lendemain 1 c. c. du mélange de sérum-culture (contenant 0,01 et sérum); nous eûmes alors un certain degré de phagolyse, mais aussi des figures de phagocytose caractéristiques.

En préparant un cobaye avec du *sérum antityphique* pur, à la dose de 2 c. c., injecté la veille dans la cavité péritonéale, nous eûmes un exsudat assez riche en leucocytes, mais qui se laissèrent détruire en grande partie. En injectant à un cobaye un jour 2 c. c. de sérum antityphique et le surlendemain deux autres c. c., nous eûmes une leucocytose abondante, un englobement rapide des bacilles, qui étaient presque complètement disparus après 10 minutes.

L'eau salée nous donna des résultats identiques à ceux obtenus avec le vibron cholérique, c'est-à-dire que les leucocytes très abondants résistaient, mais incomplètement; néanmoins il y avait phagocytose nette déjà après 2 et après 4 minutes; et ici, comme avec le vibron cholérique, on voyait dans le leucocyte des bacilles entiers à côté de boules.

Enfin nous avons essayé une autre substance, la *lécithine*. M. Danilewsky <sup>1</sup> a montré que ce corps a une influence stimulante sur les processus de multiplication des éléments cellulaires, et il était logique de penser qu'il aurait une action semblable sur les leucocytes. Mais il ne nous a donné que de mauvais résultats. Nous nous sommes servis d'abord d'une émulsion de lécithine dans l'eau, à la dose de 0,25 dans 10 c. c. d'eau, et nous injections 1 c. c. de cette émulsion. Mais la dose était trop forte, et le lendemain et les jours suivants, l'exsudat péritonéal était rempli de débris de lécithine, tandis que les leucocytes étaient relativement rares. En nous servant d'une émulsion au millième, et en injectant 2 c. c., nous avons eu le lendemain un exsudat très riche en leucocytes et ne contenant pas de débris de lécithine; l'injection de sérum antityphique avait été faite la veille sous la peau. Mais l'injection de bacilles en suspension dans le bouillon fut suivie d'une rapide disparition de leucocytes. De même dans une autre expérience où nous

<sup>1</sup> Académie des sciences, décembre 1895 et juillet 1896. — *Société de biologie*, 13 mai 1897.

injections 1 c. c. du mélange de lécithine au millième et 1 c. c., d'une dilution de sérum en bouillon au 10<sup>e</sup>; il y eut encore phagolyse par l'injection des bacilles; ce n'est que 3/4 d'heure après cette injection que les leucocytes reparurent dans l'exsudat et prirent les bacilles en boules restants.

Si nous cherchons maintenant à résumer les résultats de nos expériences, nous voyons que seul le bouillon jeune a donné aux leucocytes l'activité suffisante pour résister à la phagolyse, et encore non constamment; l'eau salée est ensuite la substance qui prépare le mieux les cobayes et permet ainsi à la phagocytose de s'exercer le plus complètement. Il ressort de là que la phagolyse est un fait très général dont il est difficile de se garder; les leucocytes sont des cellules très sensibles et sont facilement détruits par une injection de liquide; on peut arriver aisément à amener un afflux considérable de leucocytes dans la cavité péritonéale, mais il est difficile de les rendre tels qu'ils ne soient pas impressionnés défavorablement par l'arrivée d'un liquide chargé de bacilles.

Mais nous pensons que ces expériences n'en contribuent pas moins à jeter quelque lumière sur le mécanisme de l'immunité dans la péritonite cholérique et la péritonite typhique des jeunes cobayes; en effet, nous avons pu constater que la formation extra-cellulaire des granules était en rapport avec l'intensité de la phagolyse: dans l'expérience de Pfeiffer, tous les leucocytes sont atteints, la phagolyse est complète, et toutes les boules se forment dans le liquide; quand il y a hyperleucocytose, avec phagolyse incomplète, il y a à la fois formation extra-cellulaire de granules et englobement des bacilles avec formation intra-cellulaire de granules; enfin quand il y a hyperleucocytose et que la phagolyse a pu être évitée, il y a très rapidement phagocytose, englobement des bacilles qui sont transformés en granules dans l'intérieur des leucocytes, puis détruits.

Nous tenons, en terminant ce travail, à remercier notre maître, M. Metchnikoff, de l'obligeance avec laquelle il nous a prodigué ses excellents conseils, et à lui en exprimer ici notre sincère reconnaissance.



EXPLICATION DE LA PLANCHE XXI

---

N° 1. Cobaye préparé avec du bouillon neuf; expérience avec le vibron cholérique; dose de sérum employé 0,01. Prise faite 12 minutes après l'injection.

N° 2. Même expérience.

N° 3. Cobaye préparé avec 5 c. c. d'eau salée à 1 0/0 et 1 c. c. de sérum anticholérique. Prise faite après 5 minutes.

N° 4. Cobaye préparé avec 10 c. c. d'eau salée à 1 0/0 et 1 c. c. d'une dilution de sérum antityphique en bouillon au 10<sup>e</sup>. Expérience avec le bouillon typhique. Prise faite après 2 minutes.

N° 5. Cobaye préparé de la même façon. Bacille typhique. Prise faite après 4 minutes.

---

# RECHERCHES SUR LE BOUTON D'ALEP

PAR LES D<sup>rs</sup>

M. NICOLLE

ET

NOURY-BEY

Directeur de l'Institut Impérial de Constantinople.

Préparateur.

---

## I

La question du bouton d'Alep est encore très obscure au point de vue bactériologique. Il est cependant à remarquer que presque tous les auteurs qui ont étudié ce sujet, MM. Duclaux, Chantemesse, Heydenreich, Riehl et Paltauf, Leloir, Loustalot, etc., ont constamment rencontré des microcoques dans les lésions. Ces microcoques se rapprochaient ou non des staphylocoques ou des streptocoques. Dans ces derniers temps, M. Veillon a isolé d'un cas de bouton d'Alep un streptothrix dont il serait tenté de faire l'agent pathogène de l'affection.

Pour nous, nous pensons, après l'examen attentif de neuf cas types, que la maladie doit être rapportée à un streptocoque spécial, non influencé par le sérum de Marmorek. Nous avons d'abord rencontré cet organisme dans deux cas observés à Constantinople, grâce à l'obligeance de M. le professeur V. Düring; puis nous l'avons retrouvé dans sept cas étudiés à Alep même par l'un de nous<sup>1</sup>.

Rappelons en quelques mots les caractères du bouton, tel du moins qu'il se présente aux médecins d'Alep.

## II

Le bouton est d'une excessive fréquence. Personne n'y échappe parmi les indigènes; les Européens sont moins souvent atteints. L'affection semble contagieuse de l'homme à l'homme; des personnes d'Alep ont parfois transporté le mal dans des

1. Le Dr Noury-Bey.



régions de l'Asie-Mineure où il était inconnu. Le rôle étiologique des eaux est loin d'être prouvé; par contre, celui des insectes expliquerait bien des faits de contamination. Le bouton est inoculable. Inoculé ou spontané, il confère l'immunité. On n'observe pas de fréquence spéciale suivant les saisons ou les années. Aucune affection semblable n'atteint les animaux.

La lésion, d'ordinaire unique, siège de préférence à la face et aux parties découvertes. Inoculée, elle a une incubation de 1 semaine à 2 mois. Inoculée ou spontanée, elle s'annonce par une phase d'induration qui dure de 7 à 9 mois. On voit apparaître une papule du volume d'un gros nodule d'acné, qui acquiert peu à peu l'étendue moyenne d'une pièce de 20 centimes. La papule est indolore et ne s'accompagne pas de changement de couleur de la peau. Elle se recouvre, vers le 3<sup>e</sup>-5<sup>e</sup> mois, d'une croûte sous laquelle on rencontre une surface érodée, saignante. Puis vient la période d'ulcération. La croûte s'épaissit, et s'étend en même temps que l'induration sous-jacente. La lésion peut alors doubler de volume. Il se produit un peu de réaction et, sous la croûte, s'accumule un liquide séro-purulent. Après 3-4 mois, la cicatrisation commence; la croûte tombe, le derme exulcéré se dessèche, et finalement il reste une cicatrice indélébile, déprimée, caractéristique.

L'évolution atteint ordinairement 11-12 mois, rarement moins. On n'observe jamais de complications. L'affection est cependant fâcheuse par sa longue durée et l'aspect souvent très disgracieux des cicatrices qu'elle laisse au visage.

Le bouton est généralement unique. Mais on peut en compter quelquefois jusqu'à 10-12; dans ce cas, ils apparaissent, évoluent et guérissent parallèlement.

Aucune thérapeutique n'ayant donné de bons résultats, on se borne à respecter la croûte et à appliquer des topiques anodins. Tout traitement intempestif aggrave et prolonge l'affection.

### III

Parmi les 9 cas que nous avons observés, 2 se rapportaient à des boutons non suppurés, dont la croûte n'avait jamais été touchée; 7 à des boutons suppurés dont la croûte s'était soulevée

spontanément par places. Chez tous les malades, nous avons recueilli les liquides destinés à l'étude bactériologique à travers la croûte préalablement cautérisée et à l'aide d'une pipette. Dans ces liquides (pus ou sang, suivant que la lésion était ou non suppurée), l'examen microscopique a révélé la présence de streptocoques : tantôt en chaînettes, tantôt en diplocoques, le plus souvent sous les deux aspects réunis, toujours abondants. Parfois d'autres microcoques plus volumineux (sans nul doute des staphylocoques), rarement quelques bacilles, accompagnaient les streptocoques.

Chez les malades n° 1 (lésion non suppurée) et n° 5 (lésion suppurée), nous avons pu exciser de très petits fragments du bouton, et retrouver dans ces fragments le streptocoque en grande abondance, à l'exclusion de toute autre forme microbienne.

Malheureusement le faible volume de ces pièces ne nous a pas permis d'entreprendre l'étude anatomo-pathologique de l'affection.

Les cultures faites avec le sang ou le pus nous ont fourni les résultats suivants :

- |   |  |
|---|--|
| { | 3 fois le streptocoque à l'état de pureté.   |
|   | 2 fois le streptocoque mélangé au staphylocoque doré (dans l'un de ces cas il y avait co-existence d'un streptothrix). |
|   | 2 fois le streptocoque mélangé au staphylocoque citrin.  |
|   | 1 fois le streptocoque mélangé au staphylocoque blanc.   |
|   | 1 fois le streptocoque mélangé à un bacille.   |

Ci-joint un tableau résumant nos 9 observations.

N <sup>o</sup> d'ordre.	SIGNALEMENT	EXAMEN	MICROBES ISOLÉS DU BOUTON
	CLINIQUE	MICROSCOPIQUE	(Cultures en strie sur gélose-sérum.)
1.	Enfant de 8 ans. Bouton de 6 mois. Pas de suppuration. La croûte n'a jamais été touchée. (Alep.)	Streptocoques dans le sang pris au-dessous de la croûte (et dans les coupes).	Les cultures faites avec le sang pris au-dessous de la croûte ont donné : 1. Streptocoque (colonies abondantes). 2. Staphylocoque blanc (col. rares). 3. Un streptothrix (col. peu nombreuses).
2.	Enfant de 6 ans. Bouton de 6 mois. Pas de suppuration. La croûte n'a jamais été touchée. (Alep.)	Streptocoques dans le sang pris au-dessous de la croûte.	Les cultures faites avec le sang pris au-dessous de la croûte ont donné : 1. Streptocoque (colonies abondantes). 2. Staphylocoque citrin (col. rares).
3.	Homme de 25 ans. Bouton de 8 mois. Suppuration. Croûte soulevée en certains points. (Alep.)	Streptocoques dans le pus pris au travers de la croûte.	Les cultures faites avec le pus pris au travers de la croûte ont donné : 1. Streptocoque (colonies abondantes). 2. Staphylocoque doré (col. assez abondantes).
4.	Enfant de 10 ans. Bouton de 9 mois. Suppuration. Croûte soulevée en certains points. (Alep.)	Streptocoques dans le pus pris au travers de la croûte.	Les cultures faites avec le pus pris au travers de la croûte ont donné : 1. Streptocoque (colonies abondantes). 2. Staphylocoque citrin (col. rares).
5.	Femme de 20 ans. Bouton de 8 mois. Suppuration. Croûte soulevée en certains points. (Alep.)	Streptocoques dans le pus pris au travers de la croûte (et dans les coupes).	Les cultures faites avec le pus pris au travers de la croûte ont donné : Streptocoque seul (colonies abondantes).
6.	Enfants de 7 ans. Bouton de 9 mois. Suppuration. Croûte soulevée en certains points. (Alep.)	Streptocoques dans le pus pris au travers de la croûte.	Les cultures faites avec le pus pris au travers de la croûte ont donné : 1. Streptocoque (colonies abondantes). 2. Un bacille (colonies rares).
7.	Enfant de 5 ans. Bouton de 8 mois. Suppuration. (Alep.)	Streptocoques dans le pus pris au travers de la croûte.	Les cultures faites avec le pus pris au travers de la croûte ont donné : Streptocoque seul (colonies abondantes).
8.	Adulte. Bouton suppuré. Croûte soulevée en certains points. (Constantinople.)	Streptocoques dans le pus pris au travers de la croûte.	Les cultures faites avec le pus pris au travers de la croûte ont donné : Streptocoque seul (colonies abondantes).
9.	Adulte. Bouton suppuré. Croûte soulevée en certains points. (Constantinople.)	Streptocoques dans le pus pris au travers de la croûte.	Les cultures faites avec le pus pris au travers de la croûte ont donné : 1. Streptocoque (colonies abondantes). 2. Staphylocoque doré (col. rares).



On ne saurait attribuer un rôle sérieux aux staphylocoques, si répandus à la surface des téguments normaux ou pathologiques, et qui, d'ailleurs, n'existaient qu'à l'état d'unités dans tous nos tubes d'isolement. Le bacille saprophyte, que nous avons rencontré dans un cas sous forme de rares colonies, et qui se rapproche du bacille orange, n'a évidemment rien à voir non plus avec le bouton d'Alep. Quant au streptothrix, nous y reviendrons en terminant cette note ; il est sans rapport avec l'affection.

Reste le streptocoque, constant, isolé 3 fois à l'état de pureté complète (dans le cas n° 8, 14 tubesensemencés n'ont montré que des colonies streptococciques), auquel il nous semble difficile de dénier le rôle d'agent pathogène.

#### IV

Ce streptocoque n'offre rien de bien spécial dans ses caractères morphologiques. Ensemencé en bouillon-sérum, il donne des cultures tantôt typiques, tantôt un peu troubles, toujours abondantes. Même abondance sur gélatine et gélose. Le laitensemencé se coagule en 30 heures environ (caractère constant). La croissance a lieu dans le vide, mais les cultures restent maigres. Sur pomme de terre, aucun développement.

Inoculé aux animaux, le streptocoque se montre peu virulent. Il faut en moyenne 2 c. c. de culture en bouillon-sérum (48 heures à 37°) dans la plèvre pour tuer un lapin de 1,500 grammes en une dizaine de jours. La même dose, injectée dans la plèvre d'un cobaye de 350 grammes, le tue presque toujours plus rapidement. Nous avons pu renforcer cette faible virulence initiale à l'aide de passages par le lapin ou par le cobaye ; mais lentement et difficilement, malgré l'emploi du bouillon-ascite si favorable d'habitude au streptocoque.

Dans l'espoir de reproduire l'affection, nous avons inoculé des singes de plusieurs espèces, soit avec le sang (cas n° 1 et n° 2), soit avec le pus (cas nos 3 et 7), soit avec les cultures (cas n° 4). Ces recherches ont totalement échoué, qu'il s'agit d'inoculations sous-cutanées ou de scarifications. Les animaux ont été naturellement suivis pendant de longs mois.

Il était indispensable de rechercher si le streptocoque se

montrerait ou non sensible au sérum de Marmorek. Aucun de nos malades n'ayant voulu se soumettre à l'inoculation de ce sérum, que M. le Dr Roux avait eu l'obligeance de nous envoyer à cet effet, nous avons dû nous contenter des résultats fournis par l'expérimentation.

Les recherches faites avec les streptocoques 1, 2, 3, 5, 6, 7 sont consignées dans le tableau suivant :

N° d'ordre des Strept.	POIDS des Lapins.	Quantité de sérum Mar- morek injecté sous la peau 24 h. avant le strept.	Quantité de culture (en bouillon-as- cite) de strep- tocoque inoculée dans la plèvre. (Cult. de 24 h. à 37°.)	RÉSULTAT.
		centim. cubes	centim. cubes	
1	4910	5	4	+ en une nuit.
1	4920	0	4	+ en une nuit.
1	4490	10	2	+ en une nuit.
1	4340	0	2	+ en une nuit.
2	4750	5	4	+ en une nuit.
2	4610	0	4	+ en une nuit.
2	4320	10	2	+ en une nuit.
2	4250	0	2	+ en une nuit.
4	4800	5	4	+ en 36 heures.
4	4870	0	4	+ en 48 heures.
4	4170	10	2	+ en 60 heures.
4	4070	0	2	+ en 72 heures.
5	4410	10	4	+ en une nuit.
5	4440	0	4	+ en 26 heures.
6	4460	10	4	a résisté.
6	4630	0	4	+ en 9 jours.
6	4470	0	4	+ en 5 jours 1/2.
6	4315	10	4	a résisté.
6	4300	10	4	a résisté.
		(Sérum anti- diphthérique).		
7	4600	10	4	+ en une nuit.
7	4750	0	4	+ en 8 jours.

Comme on peut le voir, les animaux traités préventivement par le sérum sont morts tantôt en même temps que les autres, tantôt auparavant, une fois avec un léger retard. (Streptocoques 1, 2, 4, 5, 7.) Seuls, les lapins inoculés avec le strepto-

coque n° 6 avaient paru protégés. Mais la même protection ayant été obtenue avec le sérum antidiphthérique, il ne saurait être question d'une réaction spécifique.

Nous pensons donc pouvoir conclure que le streptocoque d'Alep, non influencé par le sérum de Marmorek, représente un type spécial. Tous nos échantillons ont d'ailleurs certains caractères communs qui plaident dans le même sens : abondance dans les milieux de culture, coagulation du lait, virulence d'ordinaire plus grande pour le cobaye que pour le lapin, résistance marquée au renforcement.

## V

Disons, en terminant, que nous avons comparé le streptothrix isolé par nous avec celui de M. Veillon. Ils diffèrent l'un de l'autre. Notre streptothrix est un organisme chromogène (coloration jaune doré des cultures), sans virulence pour les animaux, y compris le singe. Il se développe en moins de 24 heures sur les divers milieux, même les plus pauvres (infusion de foin par exemple), et n'aurait dû nous échapper dans aucun cas s'il était vraiment l'agent du bouton d'Alep. D'ailleurs, nous ne l'avons pas retrouvé dans les coupes. Il ne s'agit donc que d'un simple saprophyte.

Nichan Tach, juillet 1897.

---



# NOTE SUR UN BACILLE PATHOGÈNE

POUR L'ULCÈRE DE L'YÉMEN

(Ulcère des pays chauds.)

PAR M. MILTON CRENDIROPOULO.

Médecin sanitaire au Lazaret de Camaran.

---

Depuis cinq ans que je suis attaché au service du lazaret de Camaran, j'ai eu l'occasion d'observer un nombre considérable de *plaies de l'Yémen*. La fréquence de cette maladie est telle qu'il est rare de rencontrer des gens du pays, surtout de la basse classe, qui n'en gardent pas les cicatrices. Son point de départ est toujours une solution de continuité des téguments ; souvent une piqûre d'insecte.

La petite blessure qui va devenir un ulcère prend un aspect particulier ; la peau tout autour devient livide, se surélève, et l'excoriation se couvre d'une croûte mince, molle, se détachant facilement. Enlevée à cause du prurit ou tombée d'elle-même, cette croûte laisse à découvert une plaie dont les bords sont taillés à pic et le fond couvert d'un magma épais, crémeux, qui en desséchant formera la nouvelle croûte.

Petit à petit la plaie grandit, gagne en profondeur, devient le plus souvent circulaire, et prend une couleur rouge brique ou vineux. Quand elle a acquis une certaine dimension, la croûte ne se forme plus ; alors, chez les personnes peu soigneuses, surviennent les suppurations, les œdèmes, la mauvaise odeur et les vastes décollements ; la plaie peut prendre des proportions énormes, comme je l'ai vu chez un individu dont la partie postérieure du membre inférieur droit, depuis la malléole externe, jusqu'à la hauteur des lombes du même côté était littéralement rongée.

La durée de la maladie est assez longue : les plaies récentes

convenablement soignées guérissent en trois à cinq semaines.

Contrairement à l'opinion de plusieurs auteurs, la nature spécifique de l'affection me paraît incontestable. Son aspect caractéristique, sa fréquence aux membres inférieurs chez des gens qui marchent nu-pieds, et aux mains chez ceux qui manipulent la terre, plaident assez pour l'origine microbienne. De très robustes maçons venus d'Égypte l'ont contractée dès qu'ils eurent commencé leurs travaux : des personnes dont les conditions hygiéniques ne laissent rien à désirer, des officiers, des médecins militaires, des membres mêmes de la mission sanitaire en ont été atteints. D'autre part Le Dantec, Petit, Rietsch et Du Bourguet ont trouvé, chacun de son côté, des microbes auxquels ils ont attribué la pathogénie de l'ulcère rond. Parmi plusieurs microbes que j'ai isolés d'un assez grand nombre de plaies de l'Yémen, un seul m'a paru exercer une action pathogène spécifique, c'est celui qui fera l'objet de la présente note : les autres étaient des simples saprophytes ou des microbes ordinaires de la suppuration.

**MORPHOLOGIE, BIOLOGIE.** — D'une manière générale c'est un petit bâtonnet isolé, rarement réuni par deux, aux extrémités arrondies, deux à trois fois plus long que large ; il est mobile et présente au milieu un étranglement, apparent surtout dans les cultures jeunes. Je ne l'ai jamais vu sporuler. Il prend très bien les couleurs basiques d'aniline, mais la méthode de Gram et ses dérivés le décolorent. Sur les préparations colorées on rencontre souvent la forme en navette.

Dans les milieux liquides, les éléments sont plus volumineux, d'une grandeur inégale, et doués d'un mouvement plus vif. Dans les vieilles cultures, le bacille a une tendance à former des chaînettes, assez longues quelquefois pour occuper tout le champ du microscope, enchevêtrées, légèrement mobiles et nettement articulées.

Dans le magma de la plaie, il apparaît plus long et plus grêle qu'à l'ordinaire.

*Cultures, bouillon.* — Le bacille de l'Yémen se développe abondamment dans le bouillon<sup>1</sup> peptonisé, qui commence à se troubler dans les cinq premières heures. Au bout de 24 heures

1. Nous confectionnons notre bouillon avec le liquide concentré Maggi à 20/0.

il est fortement et uniformément trouble ; à sa surface se fait un voile mince, blanc irisé, adhérent aux parois du vase. Quelquefois le voile peut manquer ou devenir au contraire assez épais, selon des circonstances que nous n'avons pas pu préciser. Abandonné à la température de l'étuve, le bouillon commence le troisième ou quatrième jour à déposer des flocons blancs, mais ce n'est qu'au bout de trois à cinq semaines qu'il s'éclaircit et devient jaune foncé.

La culture devient fortement alcaline, et exhale une odeur fétide qui diminue et peut même manquer en répétant les cultures. Elle ne donne pas la réaction de l'indol.

*Lait.* — Le lait est coagulé au bout de 36 à 48 heures. Pas de fermentation du lactose.

*Gélose.* — Sur gélose en plaque, le bacille se développe en colonies rondes, surélevées, jaunâtres, demi-transparentes à la lumière directe, et blanc-grisâtre à la lumière oblique ; elles sont de différentes grandeurs et peuvent atteindre les dimensions d'un grain de millet. En strie, au bout de 24 heures la semence pullule en un enduit mince, humide, jaunâtre, demi-transparent, qui va en s'épaississant et qui devient blanc-grisâtre, opaque. En outre, il a une tendance à s'étendre vers les parois du verre. Dans les vieilles cultures, le milieu prend une teinte jaune foncée.

*Gélatine.* — En piqûre : au bout de 24 heures toute la surface de la gélatine est liquéfiée ; la liquéfaction descend le long de la piqûre en formant un large entonnoir rempli d'un liquide trouble. Le 10<sup>e</sup> ou 12<sup>e</sup> jour, presque toute la gélatine est liquéfiée. En plaque : au microscope, les colonies ne présentent rien de caractéristique ; elles sont circulaires, à contours irréguliers et paraissent formées de petites granulations jaunâtres.

*Pomme de terre.* — La culture est assez abondante. Au commencement, le long de la strie apparaît un trait humide à peine distinct. Puis le trait s'épaissit, jaunit et par endroits devient grisâtre. En quatre ou cinq jours la culture s'étend sur toute la surface de la pomme de terre.

La température optima est entre 38° et 40°. J'ai vu le bacille se développer assez bien encore à 43° ; il est déjà assez gêné à 24°.

Le bacille de l'Yémen paraît un aérobie vrai ; ensemencé, à l'abri de l'air, à plusieurs reprises par la méthode de Vignal et celle de Wurtz, il n'a pas poussé.



PROPRIÉTÉS PATHOGÈNES. — Ce microbe est pathogène pour les lapins et les pigeons, les seuls animaux sur lesquels j'ai pu expérimenter.

Un c. c. de culture dans le bouillon, injecté sous la peau, tue un lapin de poids moyen en trois ou cinq jours selon sa virulence ; à plus forte raison en injection péritonéale ou intraveineuse. J'ai pourtant vu un lapin de 920 grammes résister à deux injections intraveineuses de 1 c. c. faites dans l'intervalle d'un mois, et un autre de 1150 grammes mourir après avoir reçu dans les veines 5 c. c. de culture à trois reprises dans l'espace de cinq jours. La virulence de ce bacille est donc très variable. Les pigeons ne résistent pas davantage que les lapins.

Les lésions internes des animaux morts par le bacille de l'Yémen sont celles de la septicémie, plus ou moins prononcées. Ordinairement les intestins et le péritoine sont sains, à moins que l'animal n'ait succombé à une injection intra-péritonéale ; la rate est enflammée, les reins gros, friables, la capsule de Glisson se détache facilement ; le foie présente des ecchymoses plus ou moins fortes, disséminées sur tous les lobes ; les poumons sont toujours hépatisés ; j'ai souvent rencontré l'exsudat péricardique, mais jamais la pleurésie.

L'animal infecté par une dose mortelle de virus présente de l'inappétence, de la fièvre, et quelquefois de la diarrhée. Avec une dose moindre, 1/3 de c. c. par exemple, les phénomènes locaux prédominent. L'endroit injecté, ordinairement l'oreille, devient le siège d'une inflammation assez intense qui, après 3 ou 4 jours, se circonscrit à l'endroit que l'injection a touché. Là il se forme un abcès en nappe ; la peau devient friable, elle se fend toute seule ou se casse par la simple pression, et laisse sourdre une matière blanche, crémeuse, épaisse, tellement épaisse quelquefois qu'elle ressemble à du caséum.

A mesure que la peau se fend, elle se sèche et se ratatine ; détachée, elle laisse voir une plaie couverte de pus, large, dont les bords irréguliers sont taillés à pic. Cette plaie possède tous les caractères du phagédénisme ; la perte de substance est considérable ; l'oreille est souvent percée de part en part. La formation de pus est toujours minime.

Laissée à elle-même, au bout de 15 à 20 jours elle commence à rétrograder, le fond se couvre de bourgeons charnus facile-

ment saignants, et petit à petit la cicatrice se forme, cicatrice souvent vicieuse.

L'association de ce microbe avec le staphylocoque doré, à côté duquel je l'ai presque toujours rencontré, n'a pas pu malheureusement faire l'objet d'une étude approfondie. J'ai pourtant lieu de croire que la virulence du bacille de l'Yémen est exaltée en présence du dit microbe,

INOCULATIONS. — Voici le résumé de quelques-unes de mes expériences d'inoculation.

*Injection péritonéale.* — Lapin 1220 grammes. — Inoculé dans le péritoine le 19 mai à 5 h. 1/2 soir avec 1 c. c. de culture de 24 heures en bouillon. Mort dans la nuit. A l'autopsie : ventre météorisé, exsudat péritonéal abondant, épiploon injecté, intestin grêle hyperémié. Tous les viscères sont fortement enflammés : ni pleurésie ni péricardite. Bacille de l'Yémen dans tous les organes.

*Injection intraveineuse.* — Lapin 1110 grammes. T. R. 39°, 2. Inoculé dans la veine de l'oreille avec 1 c. c. de culture de 48 heures en bouillon. Soir, T. R. 41°. Mort dans la nuit. A l'autopsie : péritoine, intestins normaux; rate fortement enflammée; les reins sont gros et présentent quelques ecchymoses; foie hyperémié, par endroits grisâtre, plusieurs points hémorragiques sont disséminés sur tous ses lobes; poumons complètement hépatisés. Pas de pleurésie : en revanche exsudat péricardique sanguinolent et abondant. Bacilles dans tous les organes.

*Injectons sous-cutanées.* Lapin 1010 grammes. T. R. 39°, 5. Inoculé dans la peau le 20 mai au soir avec 1 c. c. de culture de 30 heures en bouillon. — 21 mai : T. R. 41°, 4, diarrhée. Soir : T. R. 41°, 8. Mort le matin du 22. A l'autopsie mêmes lésions : l'exsudat péricardique est séreux et peu abondant.

Lapin 1150 grammes. T. R. 30°, 2. Inoculé dans le tissu cellulaire de l'oreille, le 26 mai, à 8 heures matin, avec 1/3 c. c. de culture de 24 heures en bouillon. Soir : T. R. 40°, 5 : l'oreille est œdématisée, enflammée jusqu'à la base. — 29 mai. Une petite plaie s'est formée au-dessous du point de l'inoculation : abcès en nappe. — 1 juin. La plaie s'agrandit; elle est circulaire, à bords tranchants, profonde et couverte d'un pus blanc épais; le fond est rouge sombre. — 3 juin. La plaie est grande comme une pièce de

1 franc et profonde. — 5 juin. L'oreille est percée de part en part. A la base s'est formée une autre plaie; la peau en se déchirant a laissé sourdre une matière caséuse très épaisse, un cloaque très vaste s'est formé faisant communiquer les deux plaies. — 26 juin. La plaie de la base est en voie de guérison; l'autre est guérie en laissant un trou de 5 millimètres environ.

Lapin 800 grammes. Inoculé le 8 juin dans le tissu de l'oreille avec  $\frac{1}{3}$  c. c. de culture de 48 heures. — 11 juin. Abscess en nappe, peau friable. — 18 juin. Une grande partie de la peau de l'oreille s'est détachée; plaie large, profonde, à bords irréguliers, taillés à pic, couverte d'un caséum épais qui, enlevé, laisse voir un fond rouge vineux. 25 bourgeons charnus au fond de la plaie. — 8 juillet. Plaie complètement guérie, cicatrice vicieuse.

*Conclusions.* — En résumé le bacille de l'Yémen est très pathogène pour les animaux, principalement les lapins et les pigeons. Si les lésions internes qu'il produit ne présentent rien de positivement caractéristique, les manifestations locales offrent une certaine ressemblance avec l'ulcère des pays chauds.

Il est donc permis de croire, au moins pour le pays où nous avons étudié la maladie, que si ce bacille n'est pas le seul agent pathogène, il en est le principal, et que c'est lui qui imprime ce cachet spécial qui fait reconnaître à première vue l'ulcère de l'Yémen.

Camaran, le 30 décembre 1896.

---



# STATISTIQUE DE LA STATION PASTEUR DE TIFLIS

Relevée par le Dr E.-J. FRANTZIUS,

Ancien assistant au laboratoire de médecine militaire du Caucase.

---

En 1896, la station Pasteur de Tiflis a reçu 230 personnes : il en restait 12 en traitement de l'année précédente. Sur ces 242 malades, 232 sont partis après avoir terminé le traitement, 10 sont restés pour l'année suivante.

De ces mordus, 85 appartenaient à la série A des statistiques de l'Institut Pasteur, 53 à la série B, 90 à la série C. En outre 27 individus n'avaient pas été mordus, mais présentaient des égratignures et des piqûres ou avaient été souillées par la morsure des animaux enragés.

33 avaient reçu ce qu'on appelle des cautérisations efficaces, 152 des cautérisations inefficaces, et 152 n'avaient pas été cautérisés.

Les animaux mordeurs ont été : chiens, 193 fois ; loup, 1 fois ; chevaux, 6 fois ; chats, 2 fois ; âne, 1 fois ;

D'après leur nationalité, les malades se groupaient de la façon suivante :

Russes	110	Allemands	10
Ymérétiens	12	Juifs	5
Georgiens	18	Perses	5
Arméniens	32	Grecs	4
Tartares	5	Tchouvachs	1
Mingréliens	5	Océtiens	1
Gouriens	5	Français	1
Polonais	12		

La distribution des morsures pendant l'année a été : printemps, 50 ; été, 85 ; automne, 55 ; hiver, 9.

Chacun des individus de la série A a subi 40 vaccinations en 6 séries. Les mordus de la série B et de la série C ont subi 30 vaccinations en 5 séries : chaque série a commencé par de la moelle de 5 jours pour finir par de la moelle d'un jour. Les

individus mordus par le loup, ou ceux qui avaient été atteints à la face par d'autres animaux, recevaient en moyenne plus de 40 vaccinations. Les adultes recevaient chacun, 2 fois par jour, 3 c. c. d'émulsion, et les enfants d'un an 1,5 c. c. sous les téguments de l'abdomen.

Sont morts de la rage en 1896 :

1<sup>o</sup> Abraham T... soldat, mordu le 18 février, à la main, entré le 27 février, et mort le 17 mars, après avoir quitté la station le 13, avant d'avoir fini son traitement.

2<sup>o</sup> Eudoxia N... 3 ans, mordue à la face par un chien, le 28 mai, entrée le 3 juin, et morte le 8 juillet, 19 jours après la fin du traitement.

3<sup>o</sup> Zinaïdia A... 5 ans, mordue le 21 juillet, à la face, aux mains et au tronc, entrée le 22 juillet, atteinte par les premiers symptômes le 10 août, avant d'avoir fini son traitement, est morte la même nuit.

Dans les trois cas, il n'y a eu qu'un cas où la mort soit survenue 15 jours après la fin du traitement. La mortalité est donc de 0,45 0/0 en 1896.

Nous devons mentionner ici l'histoire d'un chef de station du chemin de fer. La maladie a d'abord été traitée comme hystérie, car le malade niait absolument avoir jamais été mordu par aucun animal. Cependant, pressé de questions, il se souvint avoir été mordu à la poitrine, dix-neuf mois auparavant, par un chien inconnu. Les symptômes caractéristiques de la rage se manifestèrent bientôt et le malade mourut. Il n'avait pas été soumis au traitement. A l'autopsie, hyperémie des méninges et de la muqueuse stomacale. L'inoculation du bulbe à deux lapins leur donne la rage. Nous n'avons pas constaté à Tiflis de cas d'incubation plus longue.

Le Dr Frantzius a fait quelques expériences confirmant l'opinion que le virus rabique ne se transmet pas par la mère à son fœtus. On a constaté aussi à la Station de Tiflis que l'urine des animaux rabiques n'est pas virulente.

On a en outre fait des expériences sur l'influence des rayons de Rœntgen sur la virulence de la moelle des lapins de passage, qui diminue un peu à la suite de quelque temps d'exposition à ces rayons<sup>1</sup>.

1. *Centralbl. f. Bact.*, 1897, nos 6 et 7.

En 1896, le Dr Frantzius a entrepris une série de recherches sur la conservation des moelles rabiques dans la glycérine et l'eau. Elles permettent de conclure que la virulence s'y conserve beaucoup plus longtemps qu'on ne le croyait, d'après les expériences de Roux, Nocard, et d'autres savants..

Le pus du malade 3, pris le lendemain de la morsure, et celui du malade 4, pris 9 jours après, ne s'est pas montré virulent.

---



# REVUES ET ANALYSES

---

## SUR L'ACTION DES DIASTASES

REVUE CRITIQUE

---

### I

Après avoir longtemps sommeillé, l'étude des diastases est entrée dans une phase d'activité et s'enrichit tous les jours de découvertes nouvelles. On peut déjà en distinguer plusieurs types. Les premières connues, celle, par exemple, qui agit, sur l'amidon pour le liquéfier, celle qui intervertit le saccharose, etc. sont des diastases *hydrolysantes*, introduisant une ou plusieurs molécules d'eau  $H^2O$  dans une molécule complexe pour la scinder en deux ou plusieurs molécules plus simples. Puis sont venues les diastases *hydrogénantes*, qui désoxydent la molécule en y introduisant au moins deux atomes d'hydrogène; puis les diastases *oxydantes* qui font l'inverse. Il ne nous manque plus, dans cet ordre d'idées, que de connaître les diastases *déshydratantes*, d'action opposée aux diastases hydrolysantes, qui, en enlevant une molécule d'eau entre deux molécules séparées, les soudent en une molécule unique. Nous aurons alors le moyen de faire, en dehors de la cellule, des analyses et des synthèses qui semblaient jusqu'ici l'apanage exclusif de la cellule vivante. Mais nous verrons tout à l'heure que cette espérance est encore lointaine.

Buchner semble avoir ouvert tout récemment un monde nouveau en nous faisant connaître une diastase qui, à elle seule, dédouble le sucre en alcool et en acide carbonique, c'est-à-dire fait le travail qu'on avait été obligé de demander jusqu'ici à la levure de bière. Nul doute que s'il y a une diastase alcoolique, il n'y ait aussi une diastase lactique, une diastase butyrique, etc., et que le seul rôle des microbes soit de sécréter ces diastases qui, convenablement protégées contre leurs agents de destruction, pourront agir en dehors de la cellule, et donner de véritables fermentations en dehors de tout être vivant.

La science nous a appris, en outre, à rapprocher de ces diastases un certain nombre de toxines microbiennes, la toxine diphtérique en

particulier (Roux et Yersin). De ces toxines se rapprochent en outre les venins sécrétés par certains animaux. Leur seule différence apparente avec les diastases microbiennes est que, pour les déceler, il faut des réactifs vivants. Nous ne connaissons la diastase qui intervertit le sucre qu'en la faisant agir sur du saccharose. Nous ne connaissons de même les toxines et les venins que par leurs effets sur certains organismes vivants, et pas sur tous. Sauf cela, les conditions de spécificité sont les mêmes partout, et il n'est pas douteux que les lois de l'action ne soient aussi les mêmes. Je conviens bien volontiers que les toxines microbiennes sont plus intéressantes que les diastases ordinaires. Ce sont des ennemis au lieu d'être des serviteurs. Mais elles sont, par contre, bien moins faciles à étudier, parce que leur réactif est un réactif physiologique au lieu d'être un réactif chimique. Deux échantillons de sucre candi bien pur peuvent être considérés comme identiques. La chimie peut les suivre dans leurs évolutions et dresser le bilan des transformations qu'ils subissent. Deux animaux de la même famille et de la même portée ne sont pas nécessairement identiques, et ne disent en outre qu'une chose quand on les interroge : ils sont malades ou ils meurent, mais il est bien difficile de suivre dans leur intérieur le mécanisme de la maladie ou de la mort.

Et pourtant, il n'est pas douteux que, dans tous les cas, le mécanisme ne soit chimique. Je sais bien que, dans ces derniers temps, on a voulu, pour expliquer l'action des diastases ou des venins, les revêtir d'un reste de force vitale qui y serait mise en dépôt par l'être, microscopique ou non, qui les produit. Mais cela, c'est du pur mysticisme, que la science repousse légitimement de son domaine.

La conclusion de ce qui précède, c'est qu'il devient de plus en plus urgent de faire l'étude chimique des diastases dont les réactifs sont chimiques. Si nous étions bien renseignés sur elles, nous aurions sûrement sur les diastases et venins des notions précieuses, et capables d'entrer immédiatement dans la pratique.

Malheureusement, rien n'est ardu comme cette étude chimique des diastases. Il nous suffira, pour le démontrer, de passer en revue les quelques notions que nous possédons sur elles, en tâchant de séparer celles auxquelles on *peut* ajouter foi de celles dont on *doit* légitimement douter. C'est un inventaire qui n'est pas facile, et pour lequel je demande à l'avance l'indulgence du lecteur.

## II

Dans ce qui va suivre, je prendrai de préférence des exemples concrets, parce qu'ils sont plus faciles à saisir ; mais mes raisonnements resteront généraux. Voici donc du saccharose mis en présence

de sa diastase, la *sucrase*, dans les conditions de température et de milieu qui favorisent le plus sa transformation en dextrose et lévulose. Ce sera par exemple à la température de 56° et en milieu convenablement acidulé. Ce que l'observation révèle tout de suite et qui n'est pas douteux, c'est que la transformation se ralentit de plus en plus. La quantité de saccharose interverti par minute va en diminuant constamment, et les dernières portions ne disparaissent qu'avec une grande lenteur. Comment expliquer ce phénomène ?

Plusieurs interprétations se présentent à l'esprit. On peut d'abord supposer, et c'est ce qu'on a fait en premier lieu, que la sucrase se détruit en agissant. Ainsi font par exemple l'ozone et l'eau oxygénée en exerçant leurs actions oxydantes : ils se décomposent et deviennent inertes. Mais l'expérience semble montrer que la sucrase reste inaltérée, et qu'on peut la retrouver, à la fin de l'opération, avec ses qualités et sa puissance originelle. De plus, on devrait, dans cette hypothèse, avoir une transformation plus rapide et plus régulièrement décroissante en ajoutant un grand excès de diastase, de façon à ce que la partie qui s'en détruit soit inappréciable sur l'ensemble. Pour des raisons que nous verrons plus tard, il n'est pas facile de suivre très loin cette déduction ; mais dans les limites où l'expérience reste probante, on voit que, si la réaction devient plus rapide, sa marche ne change guère, et les quantités de sucre interverti par minute vont encore en diminuant beaucoup.

Il faut donc en conclure que la diastase ne se détruit pas en agissant, et, pour le dire tout de suite, cette conclusion a une très grande importance, car voilà une substance qui, après avoir produit un certain effet, peut, convenablement traitée, être mise en état d'en reproduire un autre, tout à fait identique. Théoriquement, elle est douée de l'immortalité et, par là, d'une puissance indéfinie ; la disproportion de l'effet à la cause, si caractéristique pour les microbes, se retrouve donc dans une de leurs sécrétions. Nous ne sommes pourtant pas là en plein inconnu et en plein merveilleux. Le sucre peut être interverti non seulement par la sucrase, mais aussi par les acides, par exemple par l'acide sulfurique, et, dans ce cas encore, l'acide sulfurique ne se détruit pas théoriquement pendant la réaction : on peut le retrouver, prêt à agir de nouveau, quand elle est terminée. La raison profonde de ce fait, c'est que la transformation du saccharose en lévulose et dextrose peut s'accomplir par elle-même, sans emprunter aucune force extérieure, parce qu'elle dégage de la chaleur. Cela ne l'oblige pas à se faire toute seule : une pile de bois ne s'enflamme pas spontanément bien qu'elle soit combustible. La diastase ou l'acide sulfurique jouent le rôle d'une allumette qui met la combustion en train,



sans que ce phénomène nouveau qu'elle détermine influence en rien les phénomènes dont elle est elle-même le siège.

Mais alors, dira-t-on, s'il y a la même quantité de sucrase au commencement et à la fin, pourquoi la réaction se ralentit-elle ? La quantité de saccharose va en diminuant à mesure que l'intervention se poursuit. La diastase a de moins en moins à faire. Pourquoi devient-elle de plus en plus paresseuse ? Est-ce de la fatigue ? ou quelle autre cause intervient ?

A cette question, MM. O'Sullivan et Tompson ont essayé de donner une réponse dans un mémoire très étudié, inséré en 1890 dans le *Journal of the Chemical Society*. Ils font remarquer que, du moment que la sucrase reste en quantité constante, l'action rentre dans le cadre des actions étudiées par Vernon Harcourt, et dans lesquelles on fait agir une substance A, dont le poids ne varie pas, sur une autre substance B, qui diminue à mesure que dure l'action qu'elle subit. Dans l'espèce, A est la sucrase, B le saccharose, dont la quantité totale diminue de plus en plus. De sorte qu'on peut admettre qu'il se refuse d'autant plus à l'action qu'il est plus dilué, et que la quantité qui s'en intervertit par minute est proportionnelle à la quantité existant dans la liqueur au commencement de cette minute.

Ainsi nous opérons par exemple sur une solution contenant 10 grammes de saccharose en présence d'une dose constante de sucrase. Si, dans la première minute, il s'en intervertit  $\frac{1}{10}$ , c'est-à-dire 1 gramme, il n'en restera plus que 9 grammes au commencement de la seconde minute, et s'il s'en intervertit encore  $\frac{1}{10}$ , c'est non plus 1 gramme, mais 9 décigrammes qui s'intervertiront pendant la seconde minute, de sorte qu'au commencement de la troisième il en restera 8,1 grammes. Les quantités interverties par minute iront donc en décroissant : 1 gr. ; 0,9 gr. ; 0,81 gr. etc. La décroissance est en progression géométrique quand les temps croissent en progression arithmétique. C'est ce qu'on appelle en algèbre la loi logarithmique.

Si, au contraire, la quantité détruite par minute était indépendante de la dilution du saccharose et était constante, au lieu d'une courbe logarithmique on aurait une ligne droite, et la réaction serait terminée en 10 minutes. Elle dure au contraire indéfiniment dans l'autre hypothèse, car chaque minute ne voyant disparaître que  $\frac{1}{10}$  de la quantité présente, il est clair qu'il en restera toujours. Pratiquement pourtant, la sensibilité de la réaction du saccharose n'est pas indéfinie ; on peut admettre que, quand elle ne donne plus rien, il n'y a plus de saccharose et que l'intervention est terminée.

La seconde hypothèse semble donc plus conforme à l'expérience, et, pour la suivre de plus près, il n'y a qu'à déterminer à des intervalles

égaux la quantité de saccharose restante, avec toute la précision dont sont susceptibles les procédés de mesure, et à voir si la courbe qu'on trace en faisant sur du papier quadrillé le diagramme des nombres trouvés est bien une courbe logarithmique.

C'est ce qu'ont fait, avec beaucoup de méthode et de soin, MM. O' Sullivan et Tompson, et comme la courbe expérimentale coïncidait assez exactement avec la courbe théorique, ils en ont conclu que la loi qui avait donné la courbe théorique est vraie, c'est-à-dire que la quantité de saccharose intervertie dans l'unité de temps, par une quantité de sucrase qui reste constante, est proportionnelle au poids de saccharose présent dans le liquide au commencement de cet instant.

### III

Assurément, il n'y a rien de choquant dans cette conception. On peut même, en revenant à notre comparaison de tout à l'heure, se la représenter sous une forme schématique qui la rend plus saisissable. Si les tas de bois sec, auxquels l'allumette met le feu, sont très disséminés, le temps nécessaire pour les enflammer ira en augmentant avec leur distance moyenne. L'image pêche pourtant en ce que la diastase et le saccharose sont également disséminés dans la liqueur, et que par conséquent chaque tas de bois a, à côté de lui, son allumette toujours enflammée. Si on veut bien réfléchir un instant, on verra que l'objection n'est pas aussi superficielle qu'elle le paraît, et que l'hypothèse dont sont partis O'Sullivan et Tompson, et qu'ils ont cru vérifier, présente bien certaines difficultés qui la rendent douteuse.

D'abord celle-ci. Si l'effet d'une quantité déterminée de diastase diminue à mesure que diminue la quantité de saccharose présente, elle devra augmenter à mesure qu'il y aura plus de saccharose, et des liquides contenant 10, 20, 30, 40 pour cent de saccharose devront, dans la première minute et avec la même quantité de diastase, donner des quantités de sucre interverti croissant comme les nombres 1, 2, 3 et 4. Or, l'expérience n'est pas d'accord avec cette conclusion. Il n'y a, il est vrai, à soulever contre elle aucune objection théorique. La preuve c'est que, dans quelques expériences de M. Fernbach, relatées dans ces *Annales* (t. III, 1889, p. 533), elle se réalise quand on fait l'intervention par des acides étendus : la quantité de sucre interverti augmente, pour une même dose d'acide, proportionnellement à la quantité de sucre présente. Mais elle ne se réalise pas pour la diastase. Il y a, par suite, d'autres forces en action que celles que supposent MM. O'Sullivan et Tompson.

On a donc le droit de se demander si la preuve qu'ils fournissent a



la valeur qu'ils lui supposent, et si la courbe logarithmique qu'ils invoquent comme argument n'est compatible qu'avec la conception qui y a conduit. Or, il n'en est nullement ainsi, comme il est facile de le voir, même sans calcul. La pièce essentielle de leur hypothèse est qu'il y a une force retardatrice, qu'ils attribuent à la diminution dans la quantité de saccharose. On pourrait tout aussi bien attribuer cette force retardatrice à l'augmentation dans la quantité de sucre interverti. Dans les deux hypothèses, cette force retardatrice augmente suivant la même loi, celle de la dilution croissante dans le premier cas, celle de l'augmentation croissante dans la quantité de sucre interverti dans l'autre, et dans les deux cas, nous devons arriver, non pas naturellement à la même courbe logarithmique, mais à une courbe logarithmique.

Le calcul permet de préciser cette conclusion. Soit une liqueur où s'intervertit une quantité  $S$  de sucre. Soit  $s$  ce qu'il en reste au bout d'un temps  $t$ , compté à partir du commencement de la réaction. Pendant un court intervalle  $dt$ , la quantité  $ds$  qui s'intervertira sera naturellement proportionnelle à  $dt$ . Elle sera aussi proportionnelle à  $s$  d'après l'hypothèse de MM. O'Sullivan et Tompson. De sorte que si nous appelons  $m$  la quantité de sucre qu'intervertirait, dans l'unité de temps, et dans une solution sucrée contenant l'unité de poids de saccharose, la quantité de diastase employée, agissant dans les conditions de température et de milieu où fonctionne l'expérience, nous aurons :

$$-ds = m \cdot s \cdot dt$$

d'où on tire facilement la courbe de la réaction, vérifiée par MM. O'Sullivan et Tompson

$$s = S e^{-mt} = S + S(e^{-mt} - 1)$$

qui donne à chaque instant la quantité  $s$  de saccharose restant lorsqu'on connaît  $m$  et le temps de l'action.

Admettons maintenant, comme contre-partie, qu'il y a deux forces actives, l'une qui donnerait par exemple à la réaction un mouvement uniforme et qui dans le temps  $dt$  donnerait un effet  $n \cdot dt$ ; l'autre retardatrice, proportionnelle à la quantité de sucre interverti  $S - s$  existant à ce moment, et produisant un effet mesuré par  $p(S - s) dt$ ; l'équation qui nous servira de point de départ sera comme tout à l'heure,

$$-ds = [n - p(S - s)] dt$$

D'où nous tirerons



$$s = S + \frac{n}{p}(e^{-pt} - 1).$$

équation qui donne une courbe tellement semblable à la première que toute vérification expérimentale reste indécise entre elles. On peut même dire que les résultats de O'Sullivan et Tompson sont mieux d'accord avec la seconde qu'avec la première.

On aurait trouvé encore une courbe se rapprochant des précédentes en supposant que la première des actions que nous envisageons dans notre seconde hypothèse, et que nous avons supposée proportionnelle au temps, suit la loi voulue par MM. O'Sullivan et Tompson, et a une action décroissante à mesure que diminue la quantité de saccharose. De sorte que nous voilà très embarrassés. Mais nous pouvons nous consoler en nous disant que nous devons l'être. Il ne faut pas demander au calcul de débrouiller un ensemble de forces sur lesquelles nous ne savons rien. Le calcul est une boîte à musique qui ne joue que les airs qu'on lui a confiés. Au lieu de lui demander ce que nous n'y avons pas mis, adressons-nous à l'expérience.

#### IV

Celle-ci démontre nettement que les produits de la réaction d'une diastase sont un obstacle qui va sans cesse grandissant. O'Sullivan et Tompson l'avaient du reste constaté eux-mêmes, seulement ils avaient cru pouvoir réduire beaucoup l'action de cette force perturbatrice. En réalité, la grandeur de ce rôle reste encore à préciser. Il se peut qu'elle soit seule active. Il se peut qu'elle se mélange en plus ou en moins forte proportion aux forces que nous venons d'envisager. Notre conclusion est donc que le problème n'est pas résolu. Mais c'est là la première condition pour qu'on cherche à le résoudre.

Remarquons en passant que voilà une nouvelle assimilation à établir entre l'action des diastases et celle des microbes qui, eux aussi, sont gênés par les produits de leur action. Nous en verrons d'autres. Nous verrons que la sensibilité des microbes vis-à-vis des agents extérieurs, si grande qu'elle soit, est encore inférieure à celle des diastases, qui sont des réactifs plus délicats qu'aucun de nos réactifs chimiques. Nous verrons qu'il existe aussi pour les diastases des questions antiseptiques. La vaccination chimique contre les toxines, les venins, se placera à côté de la vaccination microbienne. S'il existe des diastases fermentives dont la sécrétion permet au microbe d'accomplir sa ou ses fonctions spécifiques, ces rapprochements n'ont pas le droit de nous surprendre. Mais alors, c'est la diastase qui passe

au premier plan, et le microbe retombe au second. En tout état de choses, du reste, le microbe a une force que la diastase ne possède pas : il a la vie, il est plastique et peut s'acclimater. La diastase au contraire est, autant qu'on peut le voir, immobilisée dans son action, car jusqu'ici les diverses diastases ne peuvent point se remplacer les unes les autres.

On croyait autrefois qu'il pouvait y avoir de ces suppléances, que la même diastase était capable de liquéfier par exemple l'amidon et d'intervertir le sucre. Cette promiscuité d'action n'est plus admise aujourd'hui. On peut, je crois, considérer comme acquise l'individualité des diverses diastases. Fischer a même été plus loin et a cherché à rattacher la structure moléculaire de chaque diastase à la structure moléculaire du corps auquel elle s'attaque. C'est ainsi, dit-il, que chaque serrure a sa clef, dont la forme doit être en rapport avec la structure de la serrure, sans quoi elle n'ouvre pas. Toute théorie est bonne qui fait travailler. Mais, pour discuter l'idée de Fischer, il faudrait connaître individuellement les diverses diastases, et pour cela les avoir isolées et purifiées. C'est un point sur lequel nous ne sommes pas très avancés. J'essaierai de montrer, dans un prochain article, ce qu'il faut penser des tentatives nombreuses faites dans cette direction.

DUCLAUX.

---

*Le Gérant : G. MASSON.*

---

Sceaux — Imprimerie E. Charaire.